

## Bioaktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Teripang Pasir (*Holothuria scabra*) terhadap Pertumbuhan *Klebsiella pneumoniae* Secara In Vitro

<sup>1</sup>Fifit Erwita, <sup>2</sup>Sulastrianah, <sup>2</sup>Indria Hafizah

<sup>1</sup>Program Studi Pendidikan Dokter FK UHO

<sup>2</sup>Fakultas Kedokteran Universitas Halu Oleo

Email: rinarhe@gmail.com

### ABSTRACT

*Holothuria scabra* is one of the biota that commonly found in Southeast Sulawesi waters and traditionally use as a source food and medicine by local tribe. They also harvesting this species for exported to several country with high demand. Even this species have commercially beneficence, but there is lack of publication about the bioactivity, especially *H. Scabra* derived from southeast Sulawesi. This study aims to determine secunder metabolite that contain in the extract and to examine antibacterial bioactivity of *H. scabra* ethanol extract against *Klebsiella pneumoniae* by defining the Minimum Inhibitory Concentration. The method using an experimental with post test only control group design. The extraction is using maseration method and the extract then diluted and divided into ten concentration 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, 1,56%, 0,78%, 0,39%, and 0,19%. The secunder metabolite was determined by using TLC and the MIC was determined by using dilution method. All concentration. As the result, TLC test showing positif result for alkaloid and triterpenoid and the nutrient broth starting to show no turbidity in concentration 0,78%. The conclusion of this study is ethanol extract of *H. Scabra* contain alkaloid and triterpenoid as secunder metabolite and the MIC was in 0,78% concentration.

**Keywords:** *Holothuria scabra*, *Klebsiella pneumoniae*, MIC, alkaloid, terpenoid

### PENDAHULUAN

Pneumoni selalu menduduki peringkat atas penyebab kematian bayi dan anak balita di Indonesia dan merupakan penyakit yang selalu berada pada daftar sepuluh penyakit terbanyak di puskesmas setiap tahunnya. Data pneumoni menurut provinsi menunjukkan bahwa provinsi Sulawesi Tenggara memiliki prevalensi dengan pneumoni tinggi (di atas angka nasional 0,3%). Profil Kesehatan Kabupaten/Kota di Sulawesi Tenggara pada tahun 2012 menunjukkan bahwa terdapat 5,050 penderita pneumoni balita, dari jumlah tersebut hanya 21,14% penderita yang ditangani. Sehingga pneumoni menjadi sasaran pemberantasan ISPA di Sulawesi Tenggara (Profil Kesehatan SULTRA, 2012).

Obat utama yang digunakan dalam pengobatan infeksi akibat *K. Pneumoniae* adalah antibiotik golongan beta laktam (PDPI. 2003). Namun bahan obat ini tidak

selalu efektif karena resistensi sering dijumpai dan yang semakin meningkat dalam sepuluh tahun terakhir khususnya terhadap golongan penisilin.

Kemandirian bangsa Indonesia yang kaya akan bahan obat tradisional mendorong pemerintah untuk menggalakkan program “kembali ke alam”. Beberapa bahan alami yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan obat berasal dari perairan dan salah satu jenis biota laut yang memiliki banyak manfaat dari kandungan yang dimiliki yaitu teripang.

Teripang banyak dibudidayakan di dengan tujuan ekspor ke berbagai negara (Martoyo, 1996). Teripang termasuk dalam filum *echinodermata*, merupakan salah satu biota laut yang banyak ditemukan di perairan Indonesia. Beberapa hasil penelitian membuktikan bahwa teripang merupakan hasil laut yang banyak mengandung zat-zat aktif yang bermanfaat bagi kesehatan manusia (Rahman, 2014). Biota ini memiliki kemampuan sebagai

antibakteri, antileishmania dan antikanker (Lawrence, et al, 2009), sebagai antijamur (Murray *et al.*, 2001 dan pranoto, 2012), sebagai sumber bahan pangan dan nutrisi yang penting (Bordbar, 2011).

*H. Scabra* merupakan salah satu spesies teripang yang bernilai komersial tinggi dan banyak dibudidayakan (Purwati, 2006) dan banyak ditemukan di perairan Sulawesi Tenggara. Spesies ini diketahui memiliki khasiat untuk pengobatan berbagai penyakit (Ridzwan *et al*, 2005). Nimah dkk (2012) membuktikan bahwa *H. scabra* memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Bacillus cereus*. Bioaktivitas lain adalah sebagai antikoagulan, antitrombotik, dapat menurunkan kadar kolesterol dan lemak darah, antikanker, antibakteri, antijamur, antivirus, antimalaria, antirematik dan imunostimulan (Farouk *et al.*, 2007).

Meskipun telah terbukti banyak memiliki manfaat Namun, penelitian mengenai bioaktivitas *H. Scabra* yang berasal dari perairan Sulawesi Tenggara belum banyak dilakukan.

## METODE PENELITIAN

Desain penelitian menggunakan metode eksperimental dengan *post test only with control group design*. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari-April 2015 bertempat di Laboratorium Fakultas Kedokteran Universitas Halu Oleo Kendari. *H. Scabra* diperoleh dari perairan Desa Tapulaga Kecamatan Konawe Selatan Provinsi Sulawesi Tenggara.

Ekstrak *H. Scabra* diperoleh dengan metode maserasi dan diencerkan dengan air suling menjadi 10 konsentrasi yaitu 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, 1,56%, 0,78%, 0,39%, 0,19%. Tiap konsentrasi dibuat dengan melarutkan ekstrak dalam 5

ml air suling. *K. Pneumoniae* diperoleh dari Laboratorium Kesehatan Provinsi Sulawesi Tenggara. Kontrol yang digunakan adalah kontrol media yang berisi *nutrient broth*, kontrol negatif yang berisi suspensi bakteri dan media *nutrient broth*, dan kontrol positif yang berisi seftriakson, suspensi bakteri dan *nutrient broth*.

## Uji Kandungan Metabolit Sekunder

Uji komponen senyawa kimia dilakukan menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Uji senyawa kimia yang dilakukan terdiri dari uji alkaloid, steroid/triterpenoid, tanin, flavonoid dan saponin.

## Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktifitas antibakteri dilakukan dengan menentukan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) yang secara kuantitatif dapat menentukan aktivitas antibakteri secara *in vitro* (Joseph, 2005). Metode yang digunakan adalah metode dilusi *makrotube*. Tiap konsentrasi dimasukkan ke dalam tabung raksi yang berisi *nutrient broth* dan inokulum bakteri lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah inkubasi, pertumbuhan bakteri diamati secara visual. Konsentrasi ekstrak terendah yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri secara visual dinyatakan sebagai KHM. Masing-masing pengujian dilakukan secara triplo.

## HASIL PENELITIAN

### Uji Kandungan Metabolit Sekunder

Hasil uji kandungan metabolit sekunder ditampilkan dalam tabel 1. Hasil uji senyawa metabolit sekunder ekstrak etanol *H. scabra* terhadap 5 senyawa besar bahan alam menunjukkan bercak warna pada lempeng KLT yaitu warna kuning atau orange yang menunjukkan adanya senyawa alkaloid dan bercak warna coklat yang menunjukkan adanya senyawa terpenoid.

**Tabel 1.** Tabel Hasil Uji senyawa metabolit sekunder Ekstrak *H. scabra* metode KLT

|                          | Alkaloid | Saponin | Tanin | Triterpenoid | Flavonoid |
|--------------------------|----------|---------|-------|--------------|-----------|
| Ekstrak <i>H. scabra</i> | +        | -       | -     | +            | -         |

### Uji Aktifitas Antibakteri

Pertumbuhan bakteri pada tiap tabung reaksi setelah inkubasi diamati secara visual (Gambar 1). Adanya pertumbuhan bakteri ditandai dengan adanya kekeruhan. Hasil pengamatan ditampilkan pada **Tabel 2**.

Hasil penilaian secara visual menunjukkan bahwa pada konsentrasi 0,39%-0,19% tabung uji terlihat keruh sedangkan pada konsentrasi 0,78%-3,56% tabung uji terlihat jernih dan pada konsentrasi 6,25-100 % tabung uji terlihat keruh. KHM berdasarkan hasil penilaian ditentukan pada konsentrasi 0,78%.



**Gambar 1.** Uji dilusi makrotube untuk menentukan KHM setelah inkubasi 24 jam

### PEMBAHASAN

Metabolit sekunder adalah golongan senyawa yang terkandung dalam tubuh organisme yang terbentuk melalui proses metabolisme sekunder yang disintesis dari banyak senyawa metabolisme primer, seperti asam amino, asetil koenzim A, asam mevalonat dan senyawa antara dari jalur shikimat. Senyawa ini hanya diproduksi pada tahap pertumbuhan dan perkembangan tertentu atau selama periode terjadinya cekaman serta adanya serangan patogen. Dari hasil uji KLT menunjukkan *H. Scabra* yang berasal dari perairan Sulawesi tenggara

memiliki kandungan alkaloid dan terpenoid yang diduga sebagai zat yang berperan dalam bioaktivitasnya sebagai antibakteri. Adanya aktifitas antibakteri diketahui melalui adanya penghambatan pertumbuhan *K. Pneumonia* pada uji KHM. Penelitian yang dilakukan oleh Mohammadizadeh (2013) menunjukkan bahwa *H. scabra* tidak memiliki kemampuan antibakteri terhadap *Eschericia coli*, *Staphylococcus aures* dan *Pseudomonas aeruginosa* dan memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan *Candida albicans*.

Alkaloid merupakan senyawa organik yang terdapat di alam, bersifat basa atau alkali dan sifat basa ini disebabkan karena adanya atom N (nitrogen) dalam struktur lingkaran heterosiklik atau aromatis dan dalam dosis kecil dapat memberikan efek farmakologis pada manusia. Hingga saat ini lebih dari 18.000 jenis alkaloid telah ditemukan (Dembitsky, 2005). Jenis alkaloid tersebut berasal dari kelas yang berbeda-beda dan tiap kelas dapat memiliki mekanisme kerja yang berbeda sebagai antibakteri.

Hingga saat ini belum ada publikasi yang ditemukan mengenai jenis alkaloid yang berasal dari *H. Scabra* sehingga mekanisme kerjanya belum dapat diketahui secara pasti. Beberapa mekanisme kerja alkaloid dari kelas yang berbeda sebagai antibakteri adalah dengan cara mengganggu menghambat sintesis asam nukleat dengan menghambat dihidrofolat reduktase (Rao, 2000).

**Tabel 2.** Hasil peilaian kekeruhan media bakteri yang berisi ekstrak dengan berbagai konsentrasi

|   | Konsentrasi Ekstrak (%) |    |    |      |      |       |      |      |      |       | Kontrol |     |     |
|---|-------------------------|----|----|------|------|-------|------|------|------|-------|---------|-----|-----|
|   | 100                     | 50 | 25 | 12,5 | 6,25 | 3,125 | 1,56 | 0,78 | 0,39 | 0,195 | Media   | (-) | (+) |
| 1 | +                       | +  | +  | +    | +    | -     | -    | -    | +    | +     | +       | +   | -   |
| 2 | +                       | +  | +  | +    | +    | -     | -    | -    | +    | +     | +       | +   | -   |
| 3 | +                       | +  | +  | +    | +    | -     | -    | -    | +    | +     | +       | +   | -   |

Keterangan: (+) Keruh (-) Jernih

Dalam penelitian mengenai alkaloid yang berasal dari sponge diketahui bahwa mekanisme kerjanya adalah dengan menghambat enzim BCG 3185c sehingga mengganggu homeostasis bakteri (Arai, 2014). Mekanisme lain adalah melalui penghambatan sintesis dinding sel yang akan menyebabkan lisis sehingga sel akan mati (Lamothe, 2009).

Senyawa lain yang ditemukan dalam penelitian ini adalah terpenoid. Senyawa ini menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara mengganggu dan merusak membran sel. Terpenoid bereaksi dengan porin pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya ikatan porin. Rusaknya porin yang merupakan pintu keluar masuknya senyawa akan mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri yang akan mengakibatkan sel bakteri kekurangan nutrisi sehingga pertumbuhan bakteri terhambat atau mati (Rosyidah *et al.*, 2010). Terpenoid memiliki polisakarida yang dapat menembus membran sel bakteri, sehingga sel tersebut rusak (Farouk *et al.* 2007). Beberapa jenis terpenoid yang memiliki aktivitas antimikroba yaitu monoterpenoid linalool, diterpenoid (-) *hardwicklic acid*, *phytol*, triterpenoid saponin dan triterpenoid glikosida (Gunawan, 2008).

KHM ditentukan secara visual dengan pengamatan langsung suspensi *H. Scabra* dalam medium yang berisi bakteri. berdasarkan pengamatan pada tabung uji dari konsentrasi 0.19%-0,39% menunjukkan kekeruhan, konsentrasi 0,78 % sampai 3,125 % dan konsentrasi 6,25 % sampai 100 % kembali menunjukkan kekeruhan, dan kekeruhan yang paling tinggi di konsentrasi 100 %. Hal ini diduga terjadi akibat pengaruh kekentalan ekstrak yang diuji. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka tingkat kekeruhan juga semakin tinggi dan hal ini tidak terjadi pada kontrol yang menggunakan seftriakson. Oleh karena KHM merupakan konsentrasi terendah yang sudah dapat menghambat pertumbuhan bakteri, yang ditandai dengan berkurangnya tingkat kekeruhan setelah inkubasi 24 jam, maka KHM yang ditentukan dalam penelitian ini adalah 0,78%.

Gambaran kekeruhan pada tabung uji yang pola kekeruhannya berada pada konsentrasi tinggi dan rendah sedangkan tabung uji yang jernih berada pada konsentrasi sedang, apabila dibandingkan dengan kelompok kontrol yang menunjukkan bahwa tidak ada kontaminasi pada media, pertumbuhan bakteri baik, dan ekstrak sampel juga berperan dalam menyebabkan kekeruhan pada tabung uji, maka kekeruhan pada konsentrasi tinggi diduga disebabkan oleh kekentalan ekstrak.

Sedangkan pada konsentrasi sedang tabung uji sudah mulai jernih menunjukkan bahwa pada konsentrasi sedang ekstrak sampel sudah memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri dan kekentalan ekstrak juga tidak tinggi sehingga kekeruhan yang dihasilkan tidak terlalu nampak.

Pada konsentrasi rendah yang tetap menunjukkan kekeruhan pada tabung uji menindikasikan bahwa pada konsentrasi tersebut ekstrak memang sudah tidak mampu menghambat bakteri sehingga bakteri dapat tumbuh dengan baik dan tidak ada reaksi antar senyawa pada ekstrak sampel karena konsentrasinya yang sudah sedikit.

## SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan dapat disimpulkan bahwa metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak etanol *H. scabra* dari perairan Sulawesi Tenggara terdiri dari alkaloid dan triterpenoid dengan KHM terdapat *K. pneumoniae* berada pada konsentrasi 0,78%

## SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai jenis alkaloid dan terpenoid yang berasal dari *H. Scabra*.

## DAFTAR PUSTAKA

- Arai, M., Yamano, Y., Setiawan, A., & Kobayashi, M. (2014). Identification of the Target Protein of Agelasine D, a Marine Sponge Diterpene Alkaloid, as an Anti-dormant Mycobacterial Substance. *ChemBioChem*, 15(1), 117-123.
- Bordbar, S., Farooq, A., dan Nazamid, S. 2011. High- Value Components and Bioactives from Sea Cucumbers for Functional Foods—A Review. [Marine Drugs Journal]. 1761-1805 hlm.
- Dembitsky, V. M. (2005). Astonishing Diversity of Natural Surfactants: 6. Biologically Active Marine and Terrestrial Alkaloid Glycosides. *Lipids*, 40(11).
- Joseph, D. 2005. Pharmacotherapy: A pathophysiologic approach.
- Farouk, A.E., Faizal, A.H.G., dan Ridzwan, B.H.. 2007. New Bacterial Species Isolated from Malaysian Sea Cucumbers with Optimized Secreted Antibacterial Activity. [American Journal of Biochemistry and Biotechnology]. 64-69 hlm, C.A.,
- Gunawan, I. 2007. Penampiasan Awal Ekstraksi Senyawa Bioaktif Sebagai Antibakteriserta Uji Toksisitas dan Uji Minimum Inhibitor Concentration (MIC) dari Karang Lunak Asal Perairan Pulau Panggang, Kepulauan Seribu [skripsi]. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, IPB. Bogor.
- Lamothe, R.G. 2009. Plant Antimicrobial Agents and Their Effects on Plant and Human Pathogens. *Int. J. Mol. Sci* 10: 3400-3419.
- Lawrence, A., Afifi, R., Ahmed, M., Khalifa, S., & Paget, T. 2009. Bioactivity as an Options Value of Sea Cucumbers in the Egyptian Red Sea.
- Martoyo, J. (1996). *Budi Daya Teripang*. Niaga Swadaya.
- Mohammadizadeh, F., Ehsanpor, M., Afkhami, M., Mokhlesi, A., Khazaali, A., & Montazeri, S. (2013). Evaluation of antibacterial, antifungal and cytotoxic effects of *Holothuria scabra* from the north coast of the Persian Gulf. *Journal de Mycologie Médicale/Journal of Medical Mycology*, 23(4), 225-229.
- Murray, A.P., Muniain, C., Seldes, A.M., and Maier, M. (2001). Patagonicoside A : a Novel Antifungal Disulfated Triterpene

- glycoside from the Sea Cucumber *Psolus patagonicus*. *Tetrahedron* 57: 9563-9568.
- Nimah, Farid, W.M. dan Trianto, A. "Uji Bioaktivitas Ekstrak Teripang Pasir (*Holothuria scabra*) Terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Bacillus cereus*" *Jurnal Perikanan*. 2012, hal. 1-9
- Persatuan Dokter Paru Indonesia. 2003. *Pneumoni Komunitas, Pedoman Diagnosis & Penatalaksanaan di Indonesia*. PDPI. Jakarta
- Pranoto, E. N., Ma'ruf, W. F., & Pringgenies, D. 2012. Kajian aktivitas bioaktif ekstrak teripang pasir (*Holothuria scabra*) terhadap jamur *Candida albicans*. *Jurnal Pengolahan dan Bioteknologi Hasil Perikanan*, 1(1), 1-8.
- Profil Kesehatan Sulawesi Tenggara. 2012
- Purwati, P. (2006). Reproductive patterns of *Holothuria scabra* (Echinodermata: Holothuroidea) in Indonesian waters. *Mar. Res. Indonesia*, 30, 47-55.
- Rahman, M. A. 2014. Global Sea Cucumber Fisheries: Their Culture Potentials, Bioactive Compounds and Sustainable Utilizations. *International Journal of Advances in Chemical Engineering and Biological Sciences*, 1(2), 193-197.
- Rao, K. N., & Venkatachalam, S. R. (2000). Inhibition of dihydrofolate reductase and cell growth activity by the phenanthroindolizidine alkaloids pergularinine and tylophorinidine: the in vitro cytotoxicity of these plant alkaloids and their potential as antimicrobial and anticancer agents. *Toxicology in vitro*, 14(1), 53-59.
- Ridzwan, B.H., Abidin, Z., Fredaline, B.D., Kaswandi M.A., Zaiton, H., Kittakoo, P., and Jais, A.M., 1999, Fatty Acid Compositions in Local Sea Cucumber, *Stichopus chloronatus* for Wound Healing, *Gen. Pharm.*, 33(4): 337-340.
- Rosyidah, K., Nurmuhaimina, S. A., Komari, N., Astuti, M. D., 2010, Aktivitas Antibakteri Fraksi Saponin Dari Kulit Batang Tumbuhan Kasturi (*Mangifera casturi*), *Bioscientiae*, 7(2), 29, Program Studi Kimia FMIPA Universitas Lambung Mangkurat, Banjarbaru.